



**UNIVERSIDAD MICHOACANA DE SAN
NICOLÁS DE HIDALGO**



FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

**CAMBIOS EN LA FLORA VAGINAL DE OVEJAS
KATAHDIN DESPUÉS DE USAR ESPONJAS
INTRAVAGINALES CON Y SIN ANTIBIÓTICO**

Que presenta

IRAIS MAGAÑA ARRIAGA

Para obtener el título de:

MEDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

ASESORES:

Dr. José Herrera Camacho

MC. Karlos Edmundo Orozco Dúran

Morelia Michoacán México, Septiembre 2013

RESUMEN

Con el objetivo de evaluar los cambios en la carga y tipo de flora vaginal con el uso de esponjas intravaginales para la sincronización del estro con y sin la aplicación de un antibiótico. Se utilizaron 12 ovejas Katahdin, que se dividieron aleatoriamente en dos tratamientos: Grupo 1 o control (n=6), en las que se colocó solamente una esponja comercial de poliuretano con 20mg de acetato de cronolona y Grupo 2 o AB (n=6), en las que además de aplicarse el mismo tipo de esponja, ésta se impregnó con 1g de enrofloxacin en solución. No se encontraron diferencias significativas para el número total de UFC/ml entre los tratamientos, el día de aplicación de la esponja ($P=0.57$), ni al momento del retiro de las mismas ($P=0.22$). En cuanto a los medios de cultivo, se encontró que el agar nutritivo fue el mejor medio de cultivo antes y después de retirar las esponjas, y que el agar McConkey mostró la cuenta de UFC/ml más baja, en el análisis cualitativo de las colonias se encontraron cocos y bacilos, de los cuales predominaron los cocos Gram negativos. Se concluye que en el presente estudio el uso de enrofloxacin en esponjas para la sincronización del estro, no disminuye la carga bacteriana al momento de retirar los dispositivos.

Palabras Clave: Antibiótico, ovejas Katahdin, esponjas de poliuretano, UFC.

ÍNDICE

RESUMEN.....	1
I. INTRODUCCIÓN.....	4
HIPOTESIS	6
OBJETIVO GENERAL.....	6
II.-ANTECEDENTES.....	7
2.1.- Panorama General de la Ovinocultura en México	7
2.2.- Anatomía y Fisiología Reproductiva de las Ovejas de Pelo.....	9
2.2.1.- Ovarios.....	9
2.2.2.- Oviductos.....	10
2.2.3.- Útero.....	10
2.2.4.- Cérvix	10
2.2.5.- Vagina.....	11
2.3.-Fisiología Reproductiva de las Ovejas de Pelo	11
2.3.1.- Fisiología del Ciclo Estral de la Oveja	12
2.3.2.- Desarrollo Folicular Ovárico	13
2.3.2.- Fase lútea.....	14
2.4.- Flora Microbiana Vaginal y Sus Cambios.....	14
2.5.- Sincronización del Ciclo Estral en las Ovejas.....	16
2.5.1.- Estrategias de Sincronización del Ciclo estral.....	16
2.5.2.- Dispositivos para la Sincronización del Estro	17
2.5.3.- Esponjas intravaginales	18
2.6.- Uso de Antibióticos en la Sincronización del Ciclo Estral con Esponjas Intravaginales en Ovinos.....	18
III.- MATERIAL Y MÉTODOS.....	20
3.1.- Ubicación del Área de Estudio	20
3.2.- Animales y Tratamientos.....	20
3.3.-Toma de muestras	20
3.4.- Cultivo de Microorganismos	21
3.5.- Análisis y Conteo de Colonias Bacterianas	22
3.6.- Análisis estadístico.....	23
IV.- RESULTADOS	24

V.- DISCUSIÓN	27
VI.- CONCLUSIONES	29
VII.- PERSPECTIVAS.....	30
VIII.- BIBLIOGRAFÍA	31

I. INTRODUCCIÓN

Los ovinos son un recurso genético animal de importancia económica y social en países en vías de desarrollo como México. Ya que se adaptan a las distintas condiciones agroclimáticas, produciendo carne a bajo costo en sistemas de pastoreo (Durán, 2007). En los últimos años, ante el aumento de los núcleos urbanos y el crecimiento demográfico, la demanda de carne de cordero ha aumentado exponencialmente, por lo que en México no se ha logrado cubrir la demanda interna del producto. Situación que ha dado lugar al aumento de unidades de producción intensiva de corderos para carne, así como de criadores de animales de registro para pie de cría. Dichos sistemas, al tener un mayor margen de tecnificación, están implementando el uso de distintas tecnologías, dentro de las que se incluyen las biotecnologías reproductivas (De Lucas *et al.*, 2003; González *et al.*, 2007,).

La sincronización del ciclo estral con el uso de productos hormonales, es una de las técnicas reproductivas de mayor uso en México (De Lucas., 2013; Mata, 2010), entre las razones principales para su implementación, se encuentra el poder incrementar la rentabilidad de los sistemas, al inducir la actividad reproductiva en hembras jóvenes (púberes) y adultas. La sincronización del estro es necesaria para facilitar la inseminación artificial a tiempo fijo (IATF), así como el éxito en los protocolos de ovulación múltiple y transferencia de embriones (OMTE). Los protocolos de sincronización del ciclo estral se pueden ejecutar con el objetivo de acelerar el mejoramiento genético o simplemente para poder programar las fechas de parto en temporadas convenientes para el productor, obteniendo de ésta manera lotes homogéneos de corderos (Evans y Maxwell, 1990; Haresing *et al.*, 1989).

El uso de esponjas intravaginales impregnadas con progestágenos para la sincronización del estro, ha resultado ser un método eficaz, respecto a otras estrategias (Ortega, 2006; Simten, *et al.*, 2008). Sin embargo, algunos de los inconvenientes de utilizar esponjas de poliuretano, es el hecho de que al permanecer en contacto con la mucosa vaginal por algunos días, estas provocan cambios en el pH de la vagina, creando una reacción local asociada a la respuesta

inflamatoria, y a infecciones bacterianas, causando retención y acumulación de fluido vaginal muco-purulento con olor fétido (Suárez *et al.*, 2006). Éstos signos se han asociado a una disminución de la fertilidad en programas de sincronización del estro, y a una reducción en atracción sexual hacia los sementales al momento de la detección y cubrición de las hembras (Suárez *et al.*, 2006; Manes *et al.*, 2010).

Ante los inconvenientes que plantea el uso de esponjas intravaginales para sincronizar el estro en las borregas, es preciso evaluar los cambios en carga y el tipo de flora vaginal, antes y después de la inserción de éstos dispositivos. Por otra parte es preciso ampliar la información sobre el impacto de algunos antibióticos tópicos en las esponjas sobre los cambios en la flora vaginal. Ya que los estudios al respecto son escasos, por lo que la generación de nuevas investigaciones en el área permitirá crear estrategias de solución.

HIPOTESIS

El uso de enrofloxacin tópica en esponjas intravaginales para la sincronización del estro puede disminuir la carga bacteriana y modificar el tipo de microflora vaginal al momento de su retiro en ovejas Katahdin.

OBJETIVO GENERAL

Evaluar los cambios en la carga y el tipo de la microflora vaginal por efecto del uso de esponjas intravaginales de poliuretano con y sin antibiótico en ovejas Katahdin.

II.-ANTECEDENTES

2.1.- Panorama General de la Ovinocultura en México

En México tradicionalmente, la cría de pequeños rumiantes ha permanecido como una actividad pecuaria secundaria y alternativa para los productores de bajos recursos económicos y alejados de los beneficios de la asistencia técnica y la tecnología (Mata, 2010). Sin embargo ante la creciente demanda de carne de borrego en la zona central del país y ante el precio estable y atractivo que tiene la carne de ovino en pie y en canal, la ovinocultura se ha fortalecido en los últimos años siendo una actividad pecuaria muy promisoriosa (Durán, 2007; Ávila *et al.*, 2011). EL precio de esta carne se ubica en un rango de \$20 a \$30Kg/en pie, dicho precio es variable en función de las regiones de producción y calidad de los animales (SIAP, 2011).

En México, anualmente se producen cerca de 111,336 ton de carne de borrego, con un aumento de 9.5% a partir del año 2009 hasta el 2011 (SIAP, 2011); sin embargo, la demanda de carne de ovino actualmente no se ha cubierto, lo que ha dado lugar a la importación del 50% al 60 % de éste producto para lograr abastecer el consumo interno (Romero, 2013; Martínez *et al.*, 2010). Ante ésta situación, los productores nacionales han detectado en una oportunidad de inversión, por lo que existe un número creciente de sistemas de producción intensivos y semi-intensivos, así como de sistemas de granjas de ovinos de registro de razas especializadas en la producción de carne. En general la composición genética de los rebaños nacionales se centra en las siguientes razas: Suffolk, Hampshire, Rambouillet, las cuales se crían en las regiones templadas del centro y norte del país. Y las razas de pelo como Pelibuey, Blackbelly, Dorper y Katahdin, que se crían principalmente en regiones tropicales y subtropicales del territorio nacional. Las asociaciones locales y regionales de criadores de ganado ovino, se encuentran agremiadas en la Unión Nacional de Ovinocultores (UNO, 2012) reconocida por la SAGARPA y a partir de la cual, se han caracterizado los recursos genéticos nacionales (De Lucas *et al.*, 2003).

En México, de acuerdo a los datos de la FAO y SAGARPA, en el año 2011 se estimó una población ovina de 8, 219,386 de cabezas. El inventario de ovinos del Estado de Michoacán para ese mismo año ascendió a las 251,235 cabezas, representando apenas el 3.27% del inventario nacional, el cual presenta un aumento anual del 9% (SIAP, 2011).

La producción ovina de México se lleva a cabo en las distintas regiones agroclimáticas bajo diferentes esquemas productivos, donde predomina el sistema de pastoreo diurno en gramas nativas y en terrenos de cultivo post cosecha, en dichos sistemas se acostumbra el encierro nocturno para la protección del rebaño. Los sistemas extensivos y semi-extensivos se centran principalmente en la producción de corderos de destete para su posterior engorda y finalización en sistemas intensivos (Mata, 2010; Galaviz *et al.*, 2011).

Los sistemas intensivos de producción de ovinos, generalmente se caracterizan por un mayor margen de tecnificación, controlando la nutrición, salud y genética del ganado, haciendo uso de esquemas de reproducción controlada y asistida. Dentro de este tipo de sistemas, se encuentran los ranchos especializados en la producción de animales para pie de cría, los cuales en los últimos años se han avocado en la cría de razas de pelo para la producción de carne como la Pelibuey, Katahdin, Dorper y Blackbelly principalmente, debido a su adaptabilidad a diferentes condiciones climáticas y a sus características productivas (Mata, 2010; Carrera y Carrera, 2013).

De acuerdo con Basurto (1997), la mayor parte de los rebaños ovinos del país son pequeños, aproximadamente de 10 a 75 cabezas, los cuales poseen un bajo nivel de tecnificación, con un bajo rendimiento productivo. Por lo que el abasto de la mayor parte de carne para las regiones consumidoras de borrego, recae en los sistemas intensivos y semi-intensivos (De Lucas *et al.*, 2003; Andrade, 2010). Una de las alternativas reproductivas para solucionar el desabasto de corderos en México es la eficientización reproductiva de las hembras (Martínez *et al.*, 2010), a través de la implementación de biotecnologías reproductivas como la sincronización del ciclo estral, que permite mejorar la fertilidad en las explotaciones y acortar el intervalo entre partos, resultando necesaria para el uso

de la inseminación artificial a tiempo fijo (IATF) y ovulación múltiple y transferencia de embriones (OMTE) encaminadas al mejoramiento genético de los rebaños (Carbajal,2008; Carrera y Carrera, 2013).

2.2.- Anatomía y Fisiología Reproductiva de las Ovejas de Pelo

El aparato reproductor de la oveja consta de los siguientes órganos: ovarios, oviductos, útero, cérvix, vagina, y vulva, cada uno con sus diferentes funciones para la reproducción, como son, la producción de hormonas, producción cíclica de óvulos, transporte de espermatozoides, transporte del ovulo fecundado (cigoto) hacia el útero e implantación, placentación y nutrición del producto, entre otros, (Dieter y Carithers, 1999).

2.2.1.- Ovarios

De acuerdo con Páramo (2010), el ovario es un órgano esencial para la reproducción, ya que posee una función endócrina (producción de hormonas) y exocrina (producción de gametos). Los ovarios se encuentran ubicados en la cavidad pélvica y están unidos a la pared abdominal por el ligamento mesovárico, su posición depende de varios factores: entre los que destacan la edad y el número de partos de la hembra. El ovario de las ovejas posee una forma almendrada, cada ovario pesa entre 0.6 y 3.0 g, dependiendo del estadio del ciclo en que se encuentre la hembra. El ovario está constituido por una región medular, una zona cortical (corteza) y está rodeado por un epitelio superficial llamado epitelio germinal, (Evans y Maxwell, 1990). En la región medular se encuentran los nervios y vasos sanguíneos que nutren y controlan el funcionamiento de la región cortical, donde se lleva a cabo el crecimiento de folículos ováricos y producción de gametos y hormonas (estradiol y progesterona) (Hafez, 1996; Páramo, 2010).

2.2.2.- Oviductos

Los oviductos están suspendidos en el mesosalpinx, que es un pliegue peritoneal derivado de una capa lateral del ligamento ancho, son unos tubos tortuosos de unos 10-20cm de longitud, estos se dividen en cuatro segmentos que tienen diferente función. El primer segmento es la fimbria, su función es captar el ovulo para dirigirlo al sitio de fecundación que se da en el segundo segmento llamado ampolla y finalmente el istmo y la unión útero-tubárica tienen la función de regular la entrada de espermatozoides al oviducto, (Sisson, 2002; Páramo, 2010).

2.2.3.- Útero

Las ovejas poseen un útero bicornes, cada cuerno es independiente del otro, teniendo como conducto común al cuerpo uterino, que es relativamente pequeño. Presenta 3 capas tisulares principales: endometrio, miometrio y perimetrio, estas capas en conjunto ayudan al paso de los espermatozoides al sitio de fecundación y permiten a que se lleve a cabo la gestación (Evans y Maxwell, 1990; Hafez, 1996; Páramo, 2010).

2.2.4.- Cérvix

También llamado cuello uterino ya que forma parte del útero, este mide de 4 a 10cm de largo, el cérvix es una válvula que permite el paso de los espermatozoides para la fecundación del ovulo o para cerrar la luz uterina desde la vagina. Las células de revestimiento son glandulares, y su actividad secretora varía según las etapas, durante el estro secreta un moco claro y durante la gestación se produce un tapón cervical grueso que impide infecciones uterinas durante la preñez, (Evans y Maxwell, 1990; Hafez y Hafez, 2002).

2.2.5.- Vagina

La vagina es un órgano continuo después del cérvix, este posee diversas funciones, principalmente es el conducto excretor del útero, órgano femenino del coito, y conducto del parto; su permeabilidad permite el paso de medicamentos, tiene capacidad inmunitaria actuando como un órgano de depuración o defensa contra los microorganismos que pueden infectar el tracto reproductivo. El fluido o moco vaginal actúa como una barrera física contra microorganismos patógenos (Valero y Morales, 2011).

Las capas de la vagina, desde el interior son las siguientes:

Mucosa vaginal: Está formada por un epitelio escamoso estratificado, el cual puede variar en grosor y tipo celular con el ciclo ovárico y la producción diferencial de hormonas esteroides (Sisson, 2002; Páramo 2010).

Submucosa: Es tejido conectivo laxo o denso irregular y contiene folículos linfáticos, más numerosos en la porción caudal de la vagina, debido a que esta carece de glándulas la función de la mucosa es la de humectar a la vagina para que pueda realizar sus funciones (Hafez, 1996).

La túnica muscular: Consiste en un musculo liso, en general de disposición interna circular y externa longitudinal, con abundantes fibras colágenas y elásticas. Los pliegues vaginales y la disposición romboide permiten la elasticidad del órgano al momento de la cópula y el parto (Hafez, 1996).

La túnica serosa o adventicia: Se compone de tejido conectivo laxo rico en vasos sanguíneos y nervios (Frandsen, 1995; Dieter. y Carithers, 1999).

2.3.-Fisiología Reproductiva de las Ovejas de Pelo

Las ovejas de Pelo, presentan una actividad reproductiva diferente a las razas lanares, o cárnicas desarrolladas en regiones frías y templadas del mundo. Ya que su actividad reproductiva a lo largo del año no se limita a una temporada definida y limitada por el fotoperiodo natural (otoño-invierno en el hemisferio norte), por lo

que se pueden clasificar como hembras poliéstricas continuas no estacionales (Andrade, 2010; De Lucas, 2013).

En las regiones tropicales, las ovejas de pelo (Pelibuey, Blackbelly, Katahdin) han mostrado una aptitud reproductiva cambiante a lo largo del año, ya que se han reportado pariciones en los meses de Mayo-Julio, Noviembre-Enero y Febrero-Abril (Andrade, 2010). Reportándose intervalos entre partos de 180-220 días en distintas regiones, de acuerdo con Ortega (2006) las hembras de las razas Blackbelly y Pelibuey llegan a tener tres partos en dos años como promedio.

2.3.1.- Fisiología del Ciclo Estral de la Oveja

La oveja es una especie que presenta estro a intervalos regulares en temporadas reproductivas, (Evans y Maxwell, 1990) con una duración promedio del ciclo estral de 16-17 días, esto puede presentar una variación de algunos días(14-19), debido a la diferencia que existe entre razas En las ovejas estacionales, después del periodo de anestro prolongado, se presenta una primera ovulación silenciosa, la cual se caracteriza por la ausencia de comportamiento sexual o signos manifiestos del estro, este comportamiento es debido a la ausencia de un cuerpo lúteo previo, por lo que se puede presentar en ovejas púberes y durante el reinicio de la actividad ovárica posparto (Evans y Maxwell, 1990; Aké, 2000; Molina, 2010).

El ciclo estral se divide en cuatro etapas que son **(1) proestro:** precedente al estro. Inicia cuando la progesterona baja sus niveles como resultado de la luteólisis. En esta etapa las hormonas folículo estimulante (FSH) y luteinizante (LH) son las responsables para el reclutamiento de folículos, para la maduración de los ovocitos y su consecuente ovulación (Gutiérrez *et al.*, 2010). **(2) Estro:** período relativamente corto, de dos a tres días, donde la hormona predominante son los estrógenos, responsables de las alteraciones de comportamiento, en el cual la hembra acepta la cópula. El aumento en los niveles de estradiol está dado por la talla folicular y la actividad de las células de la teca interna y la granulosa (Ptaszynska, 2007). **(3)Metaestro:** periodo de transición de la dominancia de los

estrógenos a progesterona. En ésta etapa ocurre la ovulación, por lo que se lleva a cabo una reducción de los niveles plasmáticos de estradiol, originándose un aumento consecutivo en las concentraciones séricas de progesterona al formarse el cuerpo lúteo (CL) (Haresing, *et al.*, 1989). **(4) Diestro:** Es el periodo más largo del ciclo estral y donde ocurre la máxima función del CL (Durán, 2008; Uribe, *et al.*, 2009).

2.3.2.- Desarrollo Folicular Ovárico

En la hembra el proceso de desarrollo folicular ovárico comienza en la etapa puberal, aunque desde el nacimiento se encuentran los folículos primordiales, el aumento en la talla y número de folículos que son reclutados y pasan un proceso de selección y dominancia de manera cíclica es el resultado de la maduración, coordinación y comunicación del eje hipotálamo- hipófisis-ovarios (Senger, 2003)

Las principales hormonas involucradas en el periodo del crecimiento folicular son, la hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH), secretada por el hipotálamo; que estimula la hipófisis anterior para que ésta libere la hormona folículo estimulante (FSH) y la hormona luteinizante (LH), hormonas sustanciales para el crecimiento de los folículos, y la maduración de los ovocitos (Evans y Maxwell 1990; Frandson, 1995; Prieto y Velázquez, 2002).

Además de promover el crecimiento folicular, las gonadotropinas estimulan la esteroidogénesis, que da lugar a la secreción de estradiol (E_2) durante la fase folicular y de la progesterona (P_4) durante la fase de funcionamiento del cuerpo lúteo (Uribe, *et al.*, 2009; Molina, 2010).

Durante el ciclo estral de la oveja, en la fase lútea existen folículos en desarrollo, los cuales sufren un proceso de atresia ante la ausencia de picos importantes de gonadotropinas. Los folículos en desarrollo durante esta etapa secretan E_2 ; sin embargo, la P_4 Inhibe la secreción pulsátil de LH a nivel central y esto impide la maduración folicular y la ovulación. Durante la fase folicular, cuando la concentración de P_4 disminuye, el E_2 secretado por los folículos en desarrollo estimula la secreción pulsátil de LH y se ejerce un sistema de retroalimentación positivo, favoreciendo la maduración folicular y la ovulación (Prieto y Velázquez,

2002). Por lo general se han observado de dos a tres oleadas foliculares durante el ciclo estral de la oveja, las cuales no se interrumpen durante la vida productiva de hembra (Viñoles *et al.*, 2002).

2.3.2.- Fase lútea

Después de la ovulación, el folículo colapsado se llena por un coágulo de sangre constituyendo lo que se conoce con el nombre de cuerpo hemorrágico. Por la influencia de la oleada de LH, las células de la granulosa, en la pared del folículo roto, proliferan y se transforman en células luteínicas que subsecuentemente llenan el antro del folículo. A los 4 a 5 días el cuerpo hemorrágico se transforma en cuerpo amarillo sólido, llamado también cuerpo lúteo, este proceso se conoce con el nombre de luteinización (Hafez, 1989; Evans y Maxwell 1990; López *et al.*, 1993; Durán, 2008).

El cuerpo lúteo secreta P_4 , hormona sexual femenina que prepara al útero para que acepte a un ovulo fertilizado o embrión. El nivel de progesterona en el torrente sanguíneo alcanza su máxima función alrededor de los 6 días y permanece activo durante la gestación. En el caso de que no se genere la señal de reconocimiento materno de la gestación, el ciclo estral se reinicia por la liberación de $PGF2\alpha$, que se encarga de llevar a cabo la lisis del CL, reduciendo los niveles de P_4 y aumentando la talla folicular para una nueva ovulación (Evans y Maxwell, 1990; Hafez y Hafez, 2002; Senger, 2003).

2.4.- Flora Microbiana Vaginal y Sus Cambios

El cuerpo de los mamíferos debido a que regularmente mantiene una temperatura y un pH estable, además variedad de microorganismos, la naturaleza de estos dependerá de factores tales como la edad, higiene, dieta, condiciones zootécnicas y alojamiento (Fernández *et al.*, 2006; González *et al.*, 2007).

En la mucosa vaginal de algunas especies de mamíferos como la oveja, la vaca, la perra y la mujer se presenta una carga microbiológica, que normalmente es de tipo

mixto, compuesta en su mayoría por bacterias y en una menor proporción por hongos y levaduras (Boscán *et al.*, 2010). La microflora vaginal se compone por microorganismos aerobios, anaerobios facultativos y anaerobios estrictos, esto se debe a las características físicas del medio ambiente vaginal (Hafez, 1996). La mezcla de microorganismos incluye saprofitos, patógenos potenciales y oportunistas, los cuales están adaptados a un modo de vida no invasivo, determinado por las limitaciones del ambiente, es decir, pueden proliferar y causar infección si son introducidos en tejidos no habituales (Fernández *et al.*, 2006). Bajo condiciones naturales, el ambiente de la vagina, no permite la proliferación excesiva de microorganismos patógenos o saprofitos potencialmente patógenos, toda esta flora se vuelve infecciosa debido a factores que afectan este ambiente, entre los que figuran el estado fisiológico de la hembra, el medio ambiente endocrino como la gestación, parto, o puerperio. También influyen los estados de inmunosupresión y agresiones o traumatismos externos. En este sentido la presencia de cuerpos extraños modifica el tipo y la carga de microorganismos vaginales, alterando las condiciones del medio ambiente vaginal (Giuseppe, 1980; Boscán *et al.*, 2010).

Entre las bacterias aerobias vaginales se encuentran las de los géneros *Staphylococcus*, *Streptococcus* y Coliformes. Así mismo destacan los géneros *Lactobacillus*, *Fusobacterium* y *Peptostreptococcus* que se caracterizan por estar adaptados a condiciones anaeróbicas (Boscán *et al.*, 2010; Manes *et al.*, 2010).

Del medio ambiente vaginal se han aislado hongos del género *Aspergillus* y *Penicillium*, aunque la levadura más común es la *Candida albicans*. Otro microorganismo de carácter facultativo en cuanto a exigencias de oxígeno para su crecimiento es el *Arcanobacterium pyogenes* (Giuseppe, 1980). Las vaginitis (inflamación e infección vaginal), según su etiología se distinguen en traumáticas, térmicas, tóxicas e infecciosas, estas últimas son las más frecuentes y a menudo concomitantes con otras alteraciones del tracto reproductivo. De acuerdo con Gatti *et al* (2011), en el ganado ovino, bovino y porcino, la progesterona tiene efectos inmunosupresores que se han asociado con el aumento en la carga bacteriana en la vagina. Por lo tanto, la vaginitis que se presenta durante la sincronización del

ciclo estral con esponjas intravaginales puede ser consecuencia de los progestágenos presentes en la esponja, además de la irritación, absorción y retención de líquidos en la vagina debido al contacto de la mucosa vaginal con el poliuretano (Gatti *et al.*, 2011; Fernández *et al.*, 2006).

Dichos autores reportan que el crecimiento bacteriano abundante se debe principalmente a un aumento brusco de bacterias coliformes como las gram negativas (*E. coli* y *Klebsiella spp*). Se ha demostrado que en la oveja y en la rata, los cambios en la flora vaginal tienen una relación directa con el nivel de atracción sexual hacia los machos (Gatti y Ungerfeld, 2012).

2.5.- Sincronización del Ciclo Estral en las Ovejas

En la actualidad el manejo endocrinológico del ciclo estral, es una herramienta que se utiliza para aprovechar al máximo el periodo reproductivo de la hembra. Dicha estrategia mejora los resultados reproductivos (Ortega, 2006; Ávila *et al.*, 2011). Una de las ventajas de la sincronización de los estros es la facilidad para la aplicación de programas de inseminación artificial a tiempo fijo (IATF) y ovulación múltiple y transferencia de embriones (OMTE), ya que permite la presentación del estro en un periodo corto de tiempo (12-48 h) entre las hembras, reduciendo además el tiempo para su detección y sincronizando la ovulación. Esto se ha logrado al manipular la vida media del cuerpo lúteo; ya sea acortándola con agentes luteolíticos, o bien alargándola con progestágenos (Cognie y Mauleon 1989; Molina, 2010).

2.5.1.- Estrategias de Sincronización del Ciclo estral

Los métodos de sincronización con fármacos, son una herramienta que facilita el manejo de los animales al evitar el encierro diario para detección del estro. Existen 2 formas principales de llevar a cabo el control del ciclo estral en las ovejas, Las cuales se basan en el uso de hormonas (Carbajal, 2008; Gatti y Ungerfeld 2012).

Las más utilizadas son:

(1) progestágenos: estos simulan la presencia de un cuerpo lúteo; lo cual bloquea la liberación de la hormona liberadora de gonadotropina (GnRH) y ésta a su vez, inhibe la producción de estrógenos, hormona luteinizante (LH) y folículo estimulante (FSH). Por ello, al suspender su tratamiento, se elimina el bloqueo hipotalámico de GnRH, el cual estimula inmediatamente a la hipófisis para la liberación de FSH y LH en un periodo corto de tiempo (Mata, 2010; Gutiérrez, 2010).

(2) Agentes luteolíticos: Los agentes luteolíticos, como la PGF₂α se han utilizado con éxito para la inducción de la actividad estral, durante la fase de diestro, ya que inducen una interrupción prematura de la actividad del CL. El descenso de los niveles plasmáticos de progesterona, estimula la activación del eje hipotálamo-hipófisis-gónada, generando actividad folicular y ovulación. Los agentes luteolíticos por lo general se aplican después de haber utilizado, progestágenos en protocolos de sincronización combinados (Uribe *et al.*, 2010).

2.5.2.- Dispositivos para la Sincronización del Estro

Los dispositivos utilizados para la sincronización del ciclo estral en las ovejas, se basan en la liberación controlada y sostenida de progesterona y sus análogos. Estos dispositivos mantienen altas las concentraciones de progesterona, reduciendo la liberación hipofisaria de hormona FSH y LH (Durán, 2007).

Los principales análogos de progesterona utilizados para la sincronización del estro en las ovejas son los siguientes:

- Acetato de medroxiprogesterona (MAP)
- Acetato de fluorogesterona (FGA)
- Norgestomet
- Cronolona

Estos progestágenos pueden ser administrados por medio de implantes subcutáneos de silicón, dispositivos intravaginales en forma de esponjas o de

dispositivos siliconizados, inyecciones y de manera oral (Ortega, 2006; Gutiérrez 2010).

2.5.3.- Esponjas intravaginales

Las esponjas intravaginales de poliuretano han sido el tratamiento tradicional de elección para la sincronización del estro en pequeños rumiantes (Simten *et al.*, 2008), esto se debe a la eficiencia en la tasa de presentación de celo, ya que de 1 a 2 días posteriores a su retiro, aparece la actividad estral. En general las hembras tratadas con esponjas intravaginales el porcentaje de las que entran en estro se ubica entre un 80 y 100% (Orozco *et al.*, 2005; Ávila *et al.*, 2011). Algunos reportes como el de Durán (2007) muestran que el uso de tratamientos con esponjas de acetato de fluorogestona (FGA), pueden presentar una fertilidad baja en algunos casos. Por otra parte Razo (2010), encontró que el uso de las esponjas en la sincronización del estro genera una fertilidad relativamente alta, ya que de un 100% que entran en celo, un 71.8% de las hembras quedan gestantes.

Sin embargo, la tasa de fertilidad en las ovejas sincronizadas generalmente es menor, que en las ovejas que presentan celo natural o espontáneo (Knights *et al.*, 2001).

Por otra parte, el uso de esponjas intravaginales como método de sincronización del estro, puede presentar problemas, entre los que destacan la pérdida del dispositivo de (2% a 3%), el motivo principal de esta pérdida, es que el hilo de la esponja se encuentra fuera de la vulva y estos al ser mordidos por otra hembra son halados y retirados (Ortega, 2006). Otro de los problemas que ocasionan las esponjas, son las adherencias a la mucosa vaginal, vaginitis y otras infecciones al momento de retirar dichos dispositivos (Suárez *et al.*, 2006; Durán, 2007; Razo, 2010).

2.6.- Uso de Antibióticos en la Sincronización del Ciclo Estral con Esponjas Intravaginales en Ovinos

Ya que los dispositivos intravaginales son ampliamente utilizados para sincronizar el estro en ovejas, y al permanecer por varios días en la vagina, provocan un

aumento en la carga vaginal. Con la finalidad de disminuir los efectos negativos de las esponjas y evitar posibles infecciones se ha experimentado el uso de antibióticos de amplio espectro de manera local (impregnando las esponjas) y de manera sistémica, cuando se administran por vía parenteral (Suárez *et al.*, 2006).

Se han realizado algunos estudios en especies como los ovinos, bovinos y porcinos para determinar cuánto y de qué manera la mucosa vaginal se ve afectada por el uso de esponjas de poliuretano, probando el efecto de aplicar algunos antimicrobianos de manera local (Suárez *et al.*, 2006; Gatti *et al.*, 2011; Gatti y Ungerfeld, 2012).

En un reporte publicado por Suárez *et al.* (2006) se evaluaron los cambios de la carga bacteriana y del tipo de microorganismos de la mucosa vaginal en diferentes tiempos, siguiendo un tratamiento con esponjas intravaginales, además de evaluar la susceptibilidad de las bacterias a los antibióticos. En dicha investigación, se encontró que el uso de esponjas intravaginales incrementó la carga de microflora bacteriana en la misma medida, independientemente del tiempo de permanencia de la esponja en la vagina. En cuanto al uso y aplicación de antibióticos, se concluyó que la cefalotina y gentamicina resultaron efectivas, reportándose que existió resistencia a antibióticos como la amoxicilina y oxitetraciclina. Por otra parte Gatti *et al.* (2011), reportan que la oxitetraciclina disminuye el crecimiento bacteriano provocado por las esponjas intravaginales, en trabajos posteriores (Gatti y Ungerfeld, 2012), los resultados se repiten en cuanto a la eficiencia de la oxitetraciclina utilizada a nivel local.

Otros antibióticos que poseen potencial de uso en las esponjas intravaginales son los β -lactámicos (penicilinas, estreptomicinas y enrofloxacinas). Sin embargo, se debe considerar su metabolización, vida media, y costo para hacer de ésta práctica un método confiable.

III.- MATERIAL Y MÉTODOS

3.1.- Ubicación del Área de Estudio

El estudio se realizó durante el mes de diciembre de 2012 en una granja ovina comercial, ubicada al norte del municipio de Morelia, Michoacán, México. Región clasificada como CW1 (clima templado con lluvias en verano) ubicada entre los 19° 42' 08" de latitud norte y los 101° 11' 08" de longitud oeste, a una altitud media de 1921 msnm (INEGI, 1994).

3.2.- Animales y Tratamientos

Se seleccionaron 12 ovejas no gestantes de la raza Katahdin con más de 2 partos, un peso promedio de 40 kg y una condición corporal de 3 a 3.5 puntos en la escala propuesta por Russel (1984), donde 1 fue emaciada y 5 fue considerada como obesa. Los animales se encontraban clínicamente sanos y sin descarga vaginal aparente.

Las ovejas se alimentaron con ensilado de maíz, heno de alfalfa y alimento concentrado comercial cubriendo sus requerimientos nutricionales. De acuerdo a su peso vivo (Kearl, 1982). Teniendo acceso en todo momento a bebederos, sales minerales y sombreaderos.

Las 12 ovejas se dividieron aleatoriamente en 2 grupos con distinto tratamiento: **Grupo 1 o control** (n=6), en las que se colocó solamente una esponja comercial de poliuretano con 20mg de acetato de cronolona (Intervet, México). **Grupo 2 o AB** (n=6), en las que además de aplicarse el mismo tipo de esponja, ésta se impregnó con 1g de enrofloxacin tópica en solución (Bayer, México).

Las esponjas permanecieron por tiempo variable, realizándose el retiro de las mismas de forma aleatoria en ambos grupos; seleccionando dos ovejas por tratamiento los días 3, 6 y 9 posteriores a su aplicación.

3.3.-Toma de muestras

Se colectaron muestras de mucosa vaginal a las 12 ovejas antes de la aplicación de las esponjas y al momento del retiro de las mismas.

Para la toma de muestras, se introdujo un hisopo de algodón estéril con mango de madera, el cual se giró sobre la mucosa vaginal en aproximadamente 1 cm³ de superficie. Para evitar el arrastre de material extraño al fondo de la vagina, los labios vaginales se abrieron mediante el empleo de un espéculo vaginal previamente desinfectado en una solución yodada al 10%. Se cuidó que la zona del barrido fuera la misma en todas las muestras (fondo vaginal) Una vez tomada la muestra, el hisopo se colocó en 5ml de solución buffer fosfato estéril con un pH neutro (7) quebrándose el mango en la boca de los tubos para evitar tocarlo. Los tubos se sellaron herméticamente y se colocaron en una hielera con refrigerantes (4 °C) para su transporte al laboratorio.

3.4.- Cultivo de Microorganismos

La preparación de los medios de cultivo, siembra, incubación y conteo de unidades formadoras de colonia (UFC) se llevaron a cabo en el Centro Multidisciplinario de Estudios en Biotecnología (CMEB) ubicado Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia (FMVZ) de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo (UMSNH).

a) Preparación de los medios

Para el cultivo de los microorganismos, se prepararon 4 medios sólidos distintos (BD Bioixon, México): **Agar nutritivo** como medio no restrictivo; **Agar Sangre** para bacterias patógenas de actividad hemolítica, el cual se preparó con un 5 % de sangre completa de ovino; **Agar dextrosa sabouraud (PDY)**; como un medio selectivo para cultivar hongos y levaduras; y el **Agar McConkey**, para cultivar selectivamente enterobacterias. Los medios se reconstituyeron en 500ml de agua desionizada, y se esterilizaron en un autoclave a 150° C durante 15min. Después de la esterilización, los medios se colocaron en cajas de Petri estériles bajo el flujo laminar de una campana de cultivo. En cada caja se colocaron 20ml de cada medio y se empacaron al vacío, almacenándose a 6°C hasta el momento de la siembra.

b) Siembra y Cultivo de Microorganismos

El proceso de siembra se realizó en una campana de flujo laminar previamente desinfectada con luz ultravioleta por 15 min. En cada caja de cultivo y con ayuda de un asa de vidrio en forma de L, se esparcieron uniformemente sobre la superficie del agar 200µl de la solución buffer con la muestra colectada. Antes de colocar la muestra, el frasco se agitó durante 30seg en un agitador de pulso eléctrico (Vórtex) y el asa de siembra se bañó en alcohol, y se encendió para su desinfección en un mechero Bunsen. Cada muestra tomada se sembró por duplicado.

El cultivo de los microorganismos se llevó a cabo en una cámara de incubación con flujo de CO₂ a una temperatura constante de 37°C durante 24h.

3.5.- Análisis y Conteo de Colonias Bacterianas

Para realizar el conteo de las unidades formadoras de colonia (UFC) se utilizó una lupa de aumento (10X), realizándose un conteo del número total de UFC en cada caja, de acuerdo al método propuesto por Pérez *et al.* (1987).

Análisis de la Microflora Vaginal

Para la tinción de las UFC y clasificación de los microorganismos en Gram positivos y Gram negativos, se utilizó el método de tinción de Gram, de acuerdo con el protocolo descrito por Pérez (1987).

Para la tinción Gram, se analizaron 48 UFC de diferentes cajas de cultivo tomadas aleatoriamente de los diferentes medios, considerándose la misma cantidad de UFC por tratamiento antes y después del retiro de las esponjas.

Para la observación microscópica se realizó un frotis en un porta objetos por cada colonia aislada de cada uno de los cultivos, los frotis se cubrieron posteriormente con un juego de reactivos para tinción en el siguiente orden: (1) cristal violeta como colorante primario, (2) alcohol cetona como agente decolorante y (3) safranina como colorante de contraste, dejando actuar cada uno durante 1min. Posteriormente se enjuagaron con agua corriente. Los frotis se dejaron secar a temperatura ambiente, una vez valorada la tinción, se procedió a la observación

en un microscopio compuesto (Velab 2897) con el objetivo de 100x, colocando un cubre objetos y aceite de inmersión para la observación, (Pérez *et al.*, 1987; Carter, 1985).

3.6.- Análisis estadístico

Las variables que se analizaron fueron: número total de UFC/ml, número de UFC/ml por cada medio de cultivo, tipos de bacterias (por morfología) y tipos de bacterias por tinción Gram. Los datos se transformaron logarítmicamente (base 10), y se realizó un cálculo de UFC por cada ml de la solución buffer que se sembró. Los datos se analizaron mediante comparaciones de medias entre grupos mediante la prueba de “t” de Student. Además de realizarse un análisis de varianza para medidas repetidas utilizando el paquete estadístico Statgraphics centurión XV, versión 15.2.05 (2007).

IV.- RESULTADOS

En el presente estudio no se encontraron diferencias significativas para el número total de UFC/ml entre los tratamientos (Figura 1), ni en el día de inserción de la esponja ($P=0.57$) ni al día del retiro ($P=0.22$), encontrándose un promedio UFC/ml de $6.7 \times 10^9 \pm 2.3$ y $6.4 \times 10^9 \pm 2.0$ al inicio y $10.1 \times 10^9 \pm 2.6$ y $11.8 \times 10^9 \pm 1.7$ en los grupos Control y AB, respectivamente.

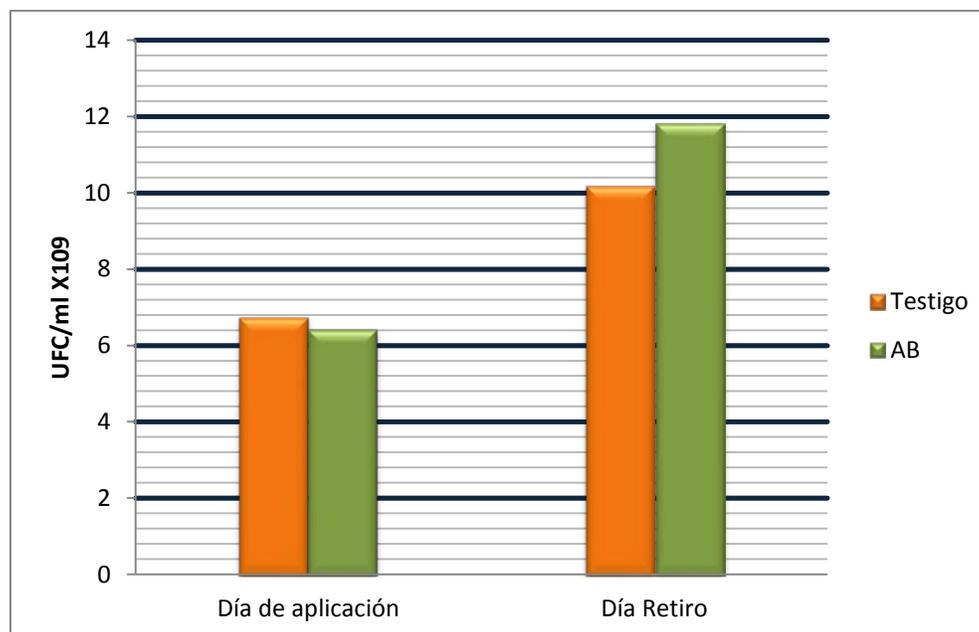


Figura 1. Promedio total de UFC/ml cultivadas a partir de mucosa vaginal en dos grupos de ovejas tratadas con esponjas intravaginales de poliuretano con y sin antibiótico (AB=grupo tratado con antibiótico).

UFC/ml= Unidades formadoras de colonias por mililitro.

En cuanto al número de UFC/ml en los diferentes días de retiro (3, 6 y 9) tampoco se encontraron diferencias significativas entre tratamientos ($P>0.05$) (Figura 2).

En el análisis de los distintos medios de cultivo se encontró que el agar nutritivo mostró un mayor número de UFC/ml al momento del retiro (8.1×10^9 UFC/ml para el Grupo 1 o control y 9.6×10^9 UFC/ml para el Grupo AB; sin que existiera diferencia significativa entre grupos ($P>0.05$).

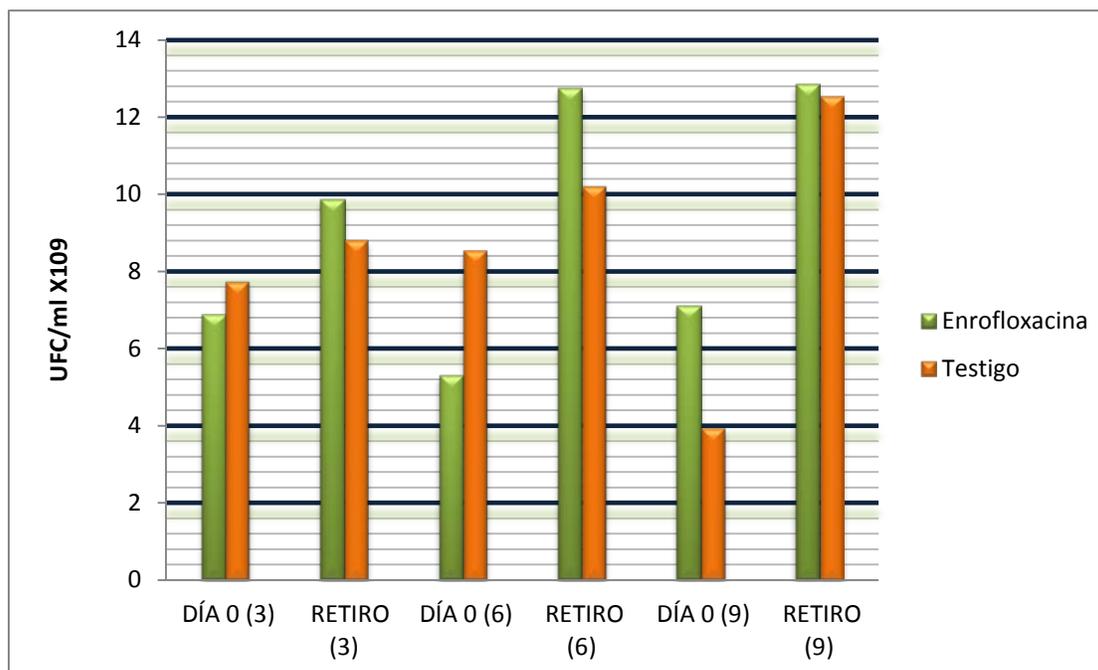


Figura 2. Cambios en la microflora vaginal (UFC/ml X10⁹) en dos grupos de ovejas Kathadin tratadas con esponjas intravaginales de poliuretano con y sin enrofloxacin.

*Día 0 (muestras tomadas antes de colocar las esponjas)

*3, 6 y 9 (días en que se realizó el retiro de las esponjas)

El segundo agar en importancia, resultó ser el agar sangre (7.5 X10⁹ UFC/ml Grupo Control y de 8.48X10⁹UFC/ml Grupo AB). Para el número de levaduras, el medio PDY mostró un promedio de 6.51 X10⁹UFC/ml en el grupo control y de 9.08 X10⁹UFC/ml en el grupo AB. El manejo sanitario de las muestras resultó ser favorable, ya que el número de enterobacterias fue de 1.55 X10⁹UFC/ml en el grupo control y de 1.43X10⁹UFC/ml en el grupo AB. Dicho medio de cultivo (McConkey), resultó con la carga de microorganismos más baja, respecto al resto de los agares de cultivo (Cuadro 1).

Cuadro 1. Promedio de UFC X10⁹/ml en diferentes medios de cultivo a partir de mucosa vaginal de ovejas tratadas con esponjas de poliuretano con y sin antibiótico, antes y después de retirar las esponjas.

Medio de cultivo	Tratamiento	Día 0 (colocación de la esponja)	Día 3 (retiro de esponja)	Día 6 (retiro de esponja)	Día 9 (retiro de esponja)
Agar nutritivo	Control	2.84	6.69	6.86	8.11
	Antibiótico	3.53	7.53	10.47	9.6
Agar sangre	Control	1.68	7.28	5.94	7.54
	Antibiótico	4.42	8.12	7.18	8.48
PDY	Control	3.7	4.72	6.38	6.51
	Antibiótico	2.62	5.8	11.43	9.08
McConkey	Control	0.12	0	4.61	1.55
	Antibiótico	1.45	2.95	0	1.43

En el análisis cualitativo de las UFC, se encontraron cocos y bacilos, de los cuales predominaron los cocos Gram negativos. Al momento de retirar las esponjas intravaginales no se encontró un cambio importante en el tipo de microorganismos con el uso de enrofloxacin tópica respecto a los cultivos antes de colocar las esponjas, encontrándose una alta similitud entre los grupos de ovejas (Figura 3).

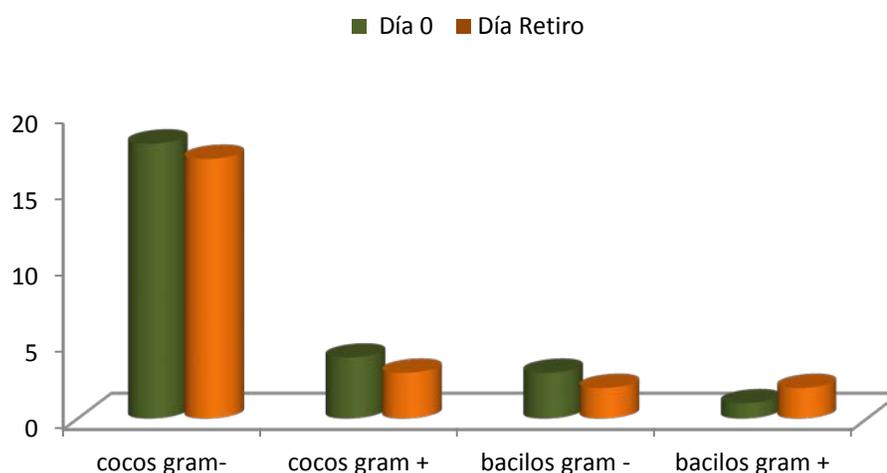


Figura 3. Tipos de bacterias cultivadas a partir de mucosa vaginal de ovejas Katahdin tratadas con esponjas intravaginales de poliuretano y acetato de cronolona antes y después de su retiro.

V.- DISCUSIÓN

El uso de esponjas de poliuretano para sincronizar el ciclo estral tiene influencia en el desarrollo de microorganismos, principalmente de bacterias a nivel vaginal (Suárez *et al.*, 2006). Aunque en el presente estudio no se encontraron cambios en entre los tratamientos, esto puede ser debido al propio mecanismo de defensa que posee la vagina (Valero y Morales, 2011), ya que las contracciones musculares, el aumento en la secreción de fluido vaginal y la infiltración de células de la respuesta inmune ayudan a la disminución de la carga bacteriana. Es importante mencionar que aunque no se observó una diferencia entre los dos tratamientos, el promedio de UFC/ml que se encontró en el estudio fue menor a lo reportado por Suárez *et al.* (2006) quienes encontraron alrededor de 10000 UFC/ml antes de colocar las esponjas. Es importante mencionar que en el presente estudio desde el momento previo a la colocación de las esponjas, la carga de UFC/ml en el grupo de ovejas tratadas con antibiótico fue numéricamente mayor, respecto a las del grupo control, situación que pudo alterar el metabolismo del antibiótico, ya que este antibiótico tiene una rápida absorción y metabolización en los rumiantes (Otero *et al.*, 2001).

Debido a que las ovejas tratadas se encontraban clínicamente sanas, esto pudo influir positivamente en el promedio de UFC/ml encontrado en el presente estudio, que se encuentra por debajo de lo reportado por otros investigadores, quienes reportan cargas de alrededor de 15, 675 UFC/ml antes de colocar las esponjas (Suárez *et al.*, 2006; Simten *et al.*, 2008). Igualmente, los resultados de la presente investigación, difieren de lo citado por Gatti *et al.* (2011), quienes encontraron una disminución significativa en la carga bacteriana al momento de retirar esponjas impregnadas con oxitetraciclina, aunque dichos investigadores administraron el mismo antibiótico de manera sistémica durante el tratamiento, situación que pudo disminuir de manera importante la flora vaginal, al combinarse la acción local y sistémica de dicho antimicrobiano de amplio espectro. En la investigación realizada por Boscán *et al.* (2010), para evaluar la población bacteriana vaginal en vacas, encontraron un dominio de las bacterias Gram positivas respecto a las Gram negativas, sin embargo en el presente estudio, en el análisis cualitativo de

las colonias se encontraron principalmente cocos y bacilos, siendo mayoría los gram negativos, resultado que coincide con lo reportado por Manes *et al.* (2010). Esta situación puede estar relacionada con el hecho de que existe variabilidad en la carga y tipo de flora vaginal entre hembras de distinta especie, incluso en individuos de la misma especie, y del mismo rebaño, ya que factores ambientales, endocrinos y fisiológicos modulan la respuesta inmune y el control bacteriano de la mucosa vaginal (Fernández *et al.*, 2006; Giuseppe, 1980). Es importante contemplar el hecho de que al introducir un cuerpo extraño a la mucosa vaginal, se modifica el microambiente de la misma, cambiando el pH, la irrigación y la secreción normal de la misma, situación que evidencia la necesidad de contar con estudios sobre la caracterización de la flora vaginal en animales productivos a lo largo del ciclo reproductivo.

VI.- CONCLUSIONES

No se encontró un efecto significativo de la enrofloxacin sobre la disminución del número total de UFC/ml al momento de retirar las esponjas en el presente estudio.

El mejor medio de cultivo que se encontró en el presente estudio fue el agar nutritivo como medio no selectivo en ambos tratamientos. Adicionalmente se encontró que en las hembras del presente estudio existió una alta carga de bacterias con actividad hemolítica por el número de UFC que crecieron en el agar sangre.

La enrofloxacin tópica no modificó el tipo de microflora vaginal en el presente estudio, predominando los cocos gram negativos en ambos grupos de ovejas.

VII.- PERSPECTIVAS

Debido a la escasa información sobre la microflora vaginal de la oveja, es importante realizar investigaciones respecto al tipo de microorganismos que están presentes de manera natural en la vagina.

Es necesario saber una cantidad más exacta de las UFC y tipo de bacterias que se encuentran en la vagina en las distintas etapas de la vida reproductiva de la hembra y en las fases del ciclo estral, para tener una idea aproximada de la utilidad de emplear ciertos antibióticos en los protocolos de sincronización del ciclo estral.

Debido a que los métodos de sincronización del ciclo estral varían en cuanto a las dosis y hormonas y dispositivos, es importante realizar estudios para conocer la manera en que influye el tipo y la dosis de progestágenos, estradiol o gonadotropinas, así como la posible influencia de los dispositivos como el CIDR y esponjas sobre los cambios asociados a la vaginitis al momento de retirar dichos dispositivos.

VIII.- BIBLIOGRAFÍA

- Aké L. J. R. 2000.** Efecto del Flunixin Meglumine en el Ciclo Estral y la Fertilidad en Ovejas Pelibuey Bajo Condiciones de Trópico. Tesis de Doctorado en Ciencias Pecuarias. Universidad de Colima. PP 9-13.
- Andrade M. 2010.** Estudio de Características Reproductivas en un Rebaño Comercial de Ovejas Pelibuey en Campeche. Tesis de maestría en recursos genéticos y productividad ganadera. Colegio de Posgraduados campus Montecillo, PP 1-4.
- Ávila O. Arboleda S. Ferrer A. 2011.** Fertilidad de Ovejas Sincronizadas con Esponjas Vaginales Colocadas Antes o Después del Destete e Inseminadas Intrauterinamente. Memoria de la XXXIX Reunión Anual de la Asociación Mexicana para la Producción Animal y Seguridad Alimentaria, A. C. Mayo 4-6, Chapingo, México. PP 127-130.
- Basurto, C. H. 1997.** Sincronización del estro en bovinos del trópico. Memorias del curso de farmacología y su aplicación en la clínica bovina. Colegio de Médicos Veterinarios Zootecnistas del México DF .pp. 11-19.
- Boscán O. J., Sambrano N. S., Nava J., Portillo M. G. 2010.** Perfil de la flora bacteriana vaginal. Un riesgo potencial para la reproducción de vacas Criollo Limonero. Revista científica FCV-LUZ. 3: 227-234.
- Carbajal D. 2008.** Tiempo y Tasa de Celo en Ovejas de Pelo Utilizando Diferentes Dosis de PGF 2 α al Final del Tratamiento con Esponjas Intravaginales. Tesis de licenciatura en Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo. PP 1, 33-39.
- Carrera C. B., Carrera C.J. M. 2013** Características de la producción ovina en el municipio de Pinos, Zacatecas, el municipio con mayor inventario nacional. Colección reportes técnicos de investigación. Vol. 1. Universidad Autónoma de Ciudad Juárez. Cd. Juárez, Chihuahua. pp. 16-18.
- Carter G.R. 1985.** Clasificación y Morfología Microbiana. Bacteriología y Micología Veterinaria. Aspectos esenciales. El manual Moderno S.A de C.V. México DF.PP. 1-10.

- Cognie Y. y Mauleon P. 1989.** Control de la reproducción en la oveja Producción Ovina .Hresing W. A.G.T Editor, S.A México DF PP 398.
- De Lucas T. Zarco Q. González P. Tórtora P. Villa G. Vásquez P. 2003.** Crecimiento Predestete de Corderos en Sistemas Intensivos de Pastoreo Y Manejo Reproductivo en el Altiplano Central de México. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Universidad Autónoma de México. Copyright. Volumen 34 numero 3 PP. 236-237.
- De Lucas Tron J. 2013.** Estrategias Reproductivas Para Aumentar la Producción de Corderos Facultad de estudios superiores. Cuautitlán Méx. Universidad Nacional Autónoma de México PP 1, 4-6. [En línea] http://spo.uno.org.mx/wpcontent/uploads/2011/07/9_jdlt_estrategias_repro.pdf (consulta 6 de Junio, 2013).
- Dieter D. H. y Carithers.J. 1999.** Aparato Reproductor Femenino. Citología e histología. Editorial. INTER-MÉDICA República Argentina. PP. 301, 311-313.
- Durán R. F. 2007.** Anatomía y fisiología de la reproducción. Manual de explotación y reproducción en caprinos, segunda edición. Grupo latino editores. Bogotá. PP 215-223.
- Durán R.F. 2008.** Anatomía y fisiología de la reproducción Manual de Explotación y Reproducción en Ovejas y Borregos. Grupo latino editores Bogotá.Ltda.PP 220-222.
- Evans G. y Maxwell, W.M.C. 1990.** Anatomía del Sistema Reproductor Femenino. Inseminación artificial de ovejas y cabras. Editorial. Acribia S.A Zaragoza España. PP. 35-39.
- Fernández M, Silvera P. López. 2006.** Las Infecciones Uterinas en la Hembra Bovina. Uterine Infections in Bovine Female. REDVET Volumen VII ISSN 1695-7504 PP1-5.15-15. 28.
- Frandsen 1995.** Anatomía del Sistema Reproductor de la Hembra. Anatomía y Fisiología de los Animales Domésticos. Quinta Edición. Frandsen 1995. Ed. INTERAMERICANA, S.A de C.V. Divicon de McGraw-Hill. Inc. México DF. PP 410-417.

- Frandsen 1995.** Fisiología de la Reproducción de la Hembra. Anatomía y Fisiología de los Animales Domésticos. Quinta Edición. Frandsen 1995. Ed. INTERAMERICANA, S.A de C.V. Divicon de McGraw-Hill. Inc. México DF. PP 420-432.
- Galaviz R. Vargas L. Zaragoza R. Bustamante G. Ramírez B. Guerrero R. Hernández Z.2011.** Evaluacion Territorial de los Sistemas de Producción Ovina en la Región nor-poniente de Tlaxcala. PRODUCCIÓN OVINA RevMéc. CiencPecu 2(1):53-66 PP54.
- Gatti, M., Ungerfeld, R. 2012.** Intravaginal sponges to synchronize estrus decrease sexual attractiveness in ewes. *Theriogenology*78:1796-1799.
- Gatti, M. Zunino, P., Ungerfeld, R. 2011.** Changes in the aerobic vaginal bacterial mucous load after treatment with intravaginal sponges in anoestrus ewes: Effect of medroxyprogesterone acetate and antibiotic treatment use. *Rep. Dom. Anim.* 46:205-208.
- Giuseppe, V. 1980.** Infecciones Puerperales. Ginecología y obstetricia veterinarias (3raEdición) UTEHA, S.A de C.V Hispano América México DF. PP 489-491
- González, T. Rios, R. Mattar, V. 2007.** Prevalencia de Bacterias Asociadas a la Infertilidad Infecciosa en Bovinos de Montería Colombia. Universidad de Córdoba, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Instituto de Investigaciones Biológicas del Trópico. A.A. 354 Rev.MVZ Córdoba volumen 12.PP 1020-1031.
- Gutiérrez, A. 2010.**Manejo hormonal del ciclo estral. Reproducción de los animales domésticos, Editores Galina C. y Valencia J. 3ra. Edición México LIMUSA PP 117- 121.
- Gutiérrez, C. Rangel, L. Lassala, A.2010.** Pubertad, ciclo estral y estacionalidad. Reproducción de los animales domésticos, Editores Galina C. y Valencia J. 3ra. Edición México LIMUSA PP 92-108.
- Hafez ES, Hafez B 2002.** Ciclos reproductivos. Reproducción e Inseminación Artificial en Animales. 7ª edición McGraw-Hill Interamericana, México, D. F. PP 60-64.

- Hafez, E.S.E 1996.** Anatomía del aparato reproductor femenino. Reproducción e inseminación artificial en animales. Hafez. E.S.E McGRAW-HILL. Interamericana México DF PP 21-51.
- Haresing W. McLeod. Webster 1989.** Control endocrino de la reproducción en ovejas. Produccion Ovina. Hresing W. A.G.T Editor, S.A México DF PP369-376.
- Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Informática (INEGI). 1994.** Resultados definitivos VII Censo Agrícola-Ganadero. Tomo II. México DF. Pp. 625-638.
- Kearl, L.C. 1982.** Nutrient requirements of ruminants in developing countries. International Feedstuffs Institute, Utah agricultural experiment station, Utah State University Logan. Utah, USA. 57 pp.
- Knights M. Hoehn T. Lewis P. Inskeep K. 2001.** Effectiveness of Intravaginal Progesterone Insert and FSH Inducing Synchronized Estrus and Increasing Lambing rate in Anestrus Ewes. Journal of Animals Cience. SCI. 79:1120-1131. PP 120-121.
- López S.A. Santiago M.J. De Bulnes A.G. García L.M. 1993.** Aspectos característicos de la fisiología reproductiva de la oveja. Rev. Cient. FCV-LUZ 3:123-133.
- Manes J. Fiorentino M.A Kaiser G. Hozbor F. Alberio R. Sánchez E. Paolicchi F. 2010.** Changes in the aerobic flora after treatment with different intravaginal diveces in ewes. Small Ruminant Research 94: 201-204 PP 201-203.
- Martínez G. Aguirre O. Gómez D. Ruiz F. Lemus F. Macías C. Moreno F. Salgado M. Ramírez L. 2010.** Tecnologías Para Mejorar la Producción Ovina en México. Numero 5 ISSN 2007-0713 PP 41-42 [En línea] <http://fuente.uan.edu.mx/publicaciones/02-05/5.pdf> (Consulta, 13 de Agosto 2013).
- Mata, M. 2010.** Inducción de Estros y Tasa de Gestación en Ovejas de Pelo Tratadas con Acetato de Melengestrol (MGA). Tesis de licenciatura en la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la UMSNH.

- Molina M. 2010.** Influencia de la Nutrición en Programas de Sincronización de Estros, Super ovulación y Transferencia d Embriones En Oveja, Posgrados de recursos genéticos y productividad ganadería. Campus Montecillo.
- Orozco, E. K., García, V. S., Romero, S. G. N., Herrera, C. J. 2005.** Tiempo y frecuencia de estro en ovejas tratadas con prostaglandinas y acetato de fluorogestona. BIOTAM 1: 391-393.
- Ortega A. 2006.** Comparación de Dos Métodos de Sincronización de Estro en Ovinos de Pelo. Tesis de Maestría en Ciencias Reproducción y Genética Animal. Facultad de Zootecnia. Secretaría de Investigación y Posgrado Universidad Autónoma de Chihuahua Chihuahua México PP 1, 13-18, 32-47.
- Otero JL, Mestorino N, Errecalde JO. 2001.** Enrofloxacin una fluorquinolona de uso exclusivo en veterinaria Parte II: farmacocinética y toxicidad. Analecta Veterinaria. 21:42-49.
- Páramo R. 2010.** Morfología de los órganos genitales del macho y de la hembra. Reproducción de animales domésticos. Galina C. y Valencia J. tercera edición México LIMUSA PP. 34-42.
- Pérez M. Vázquez M. Rodríguez S. Miranda M. Romo G. Nader G. 1987.** Tinción de Gram. Procedimientos de laboratorio para bacteriología y micología. Facultad de Medicina veterinaria y Zootecnia. Departamento de Bacteriología y Micología. Universidad Autónoma de México PP. 9-12.
- Prieto G. B. y Velázquez P. M. 2002.** Fisiología de la Reproducción: Hormona Liberadora de Gonadotropinas. Departamento de Fisiología, Facultad de Medicina. Universidad Nacional Autónoma de México Volumen 45, Numero 6, PP 252-256.
- Ptaszynska M. 2007.** Compendio de Reproducción Animal. 9a ed. Edit. Intervet. Asunción, Paraguay. PP. 222-223.
- Razo López M. 2010.** Evaluación de las Técnicas de Flushing y esponjas intravaginales con progestágenos en ovejas. Tesis de licenciatura en la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo PP18-20.

- Romero Martínez J. 2013.** Antecedentes de la Ovinocultura en México. Zootecnia de Ovinos PP 145[En línea] http://www.fmvz.unam.mx/fmvz/p_estudios/apuntes_zoo/unidad_4_ovinos.pdf (consulta 10 de Junio 2013).
- Russel A. 1984.** Body condition scoring of sheep. In Practice
- SAGARPA. 2011.** Sistema de Información Agropecuaria de Consulta (SIACON). México, D.F.
- Senger PL 2003.** Reproductive Cyclicity-Terminology and Basic Concepts. In: Pathways to Pregnancy and Parturition. Current conceptions Inc. second edition, Pullman, 361 Washington, USA; PP 146.
- Servicio de información agroalimentaria y pesquera, SIAP. México, 2011** http://www.siap.gob.mx/index.php?option=com_content&view=article&id=21&Itemid=330.
- Simten Y. Ozyurtlu N. Kucukaslan I. Atlan F.2008.** The Effect of Progestagen on the Changes of the Vaginal Flora Arising from Intravaginal Sponge Treatment and Susceptibility of the Vaginal Flora to Antibiotics in Ewes. Department of Microbiology. Department of Obstetrics and Gynecology. Department of Pharmacology and Toxicology. Faculty of Veterinary Medicine. University of Dicle, 21280, Diyarbakir, Turkey. Journal of Animal and Veterinary Advances 7(11):1418-1421 ISS: 1680-5593 PP1418-1420.
- Sisson S, 2002.** Organos Genitales de la Hembra. Anatomía de los Animales Domésticos. Tomo II, Quinta Edición. Sisson J. D. y Grossman. Editorial. MASSON, S.A Barcelona PP 1435-1470.
- Suárez G, Zunino P, Carol H, Ungerfeld R. 2006.** Changes in the aerobic vaginal bacterial mucous load and assessment of the susceptibility to antibiotics after treatment with intravaginal sponges in anestrous ewes. Facultad de veterinaria, Area de Facmacologia, Montevideo Uruguay. Small Ruminant Res.63: 39-46.
- UNO 2012.** Reglamento Técnico del Organismo de la Unidad Nacional de Ovinocultores (UNO). Arteaga C. Disposiciones Generales Numero de oficio 116.03-10595. Organismo de la Unidad Nacional de Ovinocultores.

- Uribe V. Correa O. Henry O. 2009.** Características del Crecimiento Folicular Ovárico Durante el Ciclo Estral en Ovejas. Universidad de Caldas, Facultad de Ciencias para la Salud, Departamento de Ciencias Básicas. Manizales, Colombia. Biosalud, Volumen 8 ISSN 1657-9550 pp119-126.
- Uribe V. Eunice O. Lenz S. Vélez M. Correa O. 2010.** Desarrollo Folicular en Ovejas Durante el Ciclo Estral Natural e Inducido con Prostaglandina. Universidad de Caldas Departamento de Salud Animal Manizales Colombia Volumen 20 ISSN 0798-2259.
- Valero E. y Morales S. 2011.** Aparato reproductor. Patología sistémica veterinaria, quinta edición. Trigo Tavera .McGRAW-HILL INTERAMERICANA EDITORES, S.A de C.V México DF. PP.145, 171-172.
- Viñoles C, Forsberg M, Banchemo G, Rubianes E.** Ovarian follicular dynamics 317 and endocrine profiles in Polwarth ewes with high and low body condition. AnimSci 318 2002; 74:539-545.